

RECHERCHES SUR LA VIE DANS L'HUILE, par **M. Ph. VAN TIEGHEM.**

A deux reprises (séances du 10 décembre 1880 et 14 janvier 1881) j'ai appelé l'attention de la Société sur la faculté dont jouissent certains organismes inférieurs de vivre et de se développer dans l'huile. Ayant poursuivi mes recherches dans cette voie, je demande la permission de revenir aujourd'hui sur ce sujet avec un peu plus de détails.

Que l'huile puisse être un milieu propice à la vie et au développement des organismes, c'est ce qui ne paraît pas avoir encore été remarqué. On a dit, il est vrai, au siècle dernier, que des pois gonflés sous l'eau germent ensuite lorsqu'ils sont submergés dans l'huile ; mais les expériences de Th. de Saussure ont opposé à ces assertions un démenti qui n'a pas été relevé (1). Et en effet, comme je l'ai observé sur divers exemples, non seulement des graines imbibées d'air et d'eau ne germent pas dans l'huile, mais les plantules en voie de développement qui proviennent de la germination normale de ces graines cessent de croître dès qu'on les plonge dans ce liquide ; l'arrêt de croissance est si brusque, que les jeunes racines, placées horizontalement, conservent cette situation sans courber leurs pointes en bas ; le géotropisme y est donc aussitôt supprimé. Mais si l'huile se montre impropre à entretenir la vie des plantes supérieures, elle constitue au contraire, pour un certain nombre d'organismes inférieurs, un milieu de culture approprié. Avant d'aborder le sujet dans sa généralité, je vais rappeler ou citer d'abord deux exemples particuliers.

J'ai, comme on sait, cultivé dans l'huile d'olive et d'œillette une Levûre analogue à la Levûre de bière, mais plus petite, que j'ai nommée *Saccharomyces olei*. Elle se développe dans toute l'étendue du liquide, sans s'étendre à la surface, et le rend trouble, comme laiteux. En même temps l'huile subit une altération profonde déjà signalée dans ma communication précédente et sur la nature de laquelle je puis me prononcer aujourd'hui. Elle devient acide et se saponifie. Par le fait de la séparation et de la solidification des acides gras, qui y forment des grumeaux blancs à structure radiée ou des plaques écailleuses, elle prend l'aspect d'une pâte, dont un lavage à l'eau extrait de la glycérine. Il ne se dégage pas de gaz pendant le phénomène. La Levûre de bière (*Saccharomyces cerevisiæ*) ne se développe pas dans l'huile.

D'autre part j'ai observé et cultivé dans l'huile de ricin une Monère qui se développe aussi dans toute la profondeur du liquide, qu'elle rend opalin. Les petites masses protoplasmiques, dépourvues à la fois de membrane et de noyau, qui constituent cet organisme, se meuvent lentement dans

(1) Th. de Saussure, *Recherches chimiques sur la végétation*, 1804, p. 4.

l'huile en poussant des prolongements dans divers sens à la façon des amibes, et se multiplient par bipartition. L'huile cependant paraît conserver sa composition primitive ; même après un long espace de temps, elle ne donne aucun signe de saponification.

Ces deux exemples particuliers suffisent déjà pour montrer que diverses catégories d'êtres inférieurs, plantes ou animaux, peuvent trouver dans l'huile les conditions nécessaires à leur vie et à leur développement, et qu'en même temps ces êtres peuvent agir diversement sur les corps gras qui la composent, puisque les uns les saponifient énergiquement, tandis que les autres ne les saponifient pas.

Considérons maintenant le sujet dans sa généralité.

Si, dans une huile quelconque non épurée (on comprendra bientôt l'utilité de cette restriction), on introduit un corps quelconque imbibé d'eau, on voit, après quelques jours, la surface de ce corps se couvrir d'une abondante végétation. Ce sont des filaments serrés côte à côte et dressés perpendiculairement à la surface, où ils forment comme une sorte de gazon ou de velours épais de 1 à 2 centimètres, et dont la blancheur contraste avec la couleur ambrée du liquide. Au microscope, ces filaments se montrent diversement ramifiés, quelquefois continus, mais le plus souvent cloisonnés et çà et là anastomosés : ils offrent tous les caractères du mycélium des Champignons.

Il y en a de plusieurs sortes, parfois entremêlés dans le même tapis : j'y ai distingué divers Mucors, notamment les *Mucor spinosus* et *pleurocystis*, ainsi que plusieurs Ascomycètes, notamment un *Verticillium*, un *Chaetomium*, un *Sterigmatocystis*. Mais l'espèce de beaucoup prédominante, qui forme souvent à elle seule le tapis tout entier, c'est le *Penicillium glaucum*. On en a la preuve en voyant naître sur les filaments, dans la profondeur même du liquide, les fructifications caractéristiques de cette plante. Les spores y prennent la couleur vert glauque qui leur est habituelle, mais le principe qui colore leur membrane, étant à la fois soluble dans l'huile et peu diffusible, forme une sorte de gaine nuageuse tout autour des chapelets de spores.

Cette fructification normale du *Penicillium* au sein de l'huile a déjà de quoi surprendre, si l'on se rappelle que dans les solutions aqueuses où cette plante végète avec le plus de vigueur, elle ne fructifie jamais au sein du liquide, mais seulement à sa surface au contact direct de l'air. D'autres Ascomycètes forment dans l'huile, non seulement leurs conidies, mais encore leurs périthèces que l'on rencontre à tous les états dans les cultures : tel est notamment un petit *Chaetomium* encore indéterminé.

J'ai mis en expérience les huiles non épurées les plus diverses, végétales ou animales : huile d'amande, d'arachide, de chènevis, de noix, de noisette, d'œillette, d'olive, de ricin, de foie de morue, etc. J'y ai sub-

mergé les corps imbibés d'eau les plus différents : parties de plantes vivantes (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, graines, tubercules) ; fragments de tissus animaux (viande, os, cartilage, jaune et blanc d'œuf) ; substances mortes ou minérales (papier, bois, coton, éponge, gélatine, terre cuite, plâtre, terre végétale, sable, argile, etc.) ; j'y ai introduit des gouttes liquides de diverse nature (jus d'orange, solution de noix de galle, etc.) : toujours avec le même résultat. Les mêmes corps, plongés dans une huile épurée par l'acide sulfurique comme l'huile de colza, ou chauffée comme l'huile de lin cuite et l'huile de pied de mouton, n'y développent aucune végétation ; nous saurons tout à l'heure pourquoi.

La possibilité de vivre et de se développer dans l'huile se trouvant ainsi établie pour un certain nombre de Champignons, il faut expliquer cette végétation, et pour cela plusieurs questions sont à résoudre. Il y a d'abord la question d'origine : D'où viennent les germes qui se développent dans les conditions d'expérience que nous venons d'indiquer, et notamment ceux du *Penicillium glaucum* ?

S'il est soumis à un séjour prolongé dans l'eau bouillante avant son immersion dans l'huile, le corps humide ne s'en couvre pas moins après quelques jours d'une abondante couche de Moisissures. Mais si l'on chauffe l'huile vers 200 degrés, et qu'après refroidissement on y introduise le corps humide, aucun organisme n'y apparaît, même après un temps fort long. C'est donc l'huile, non le corps humide, qui renferme les germes des Moisissures. Les diverses huiles du commerce se trouvent ainsi abondammentensemencées de divers Champignons, et surtout de *Penicillium glaucum*. C'est ce qui explique aussi l'insuccès de l'expérience citée plus haut quand elle est réalisée avec les huiles de colza, de lin ou de pied de mouton. L'action de l'acide sulfurique sur le premier liquide, de la chaleur sur les deux autres, a détruit les spores qui pouvaient y exister.

Pourquoi, dans l'huile laissée à elle-même, ces spores ne se développent-elles pas ? Parce que l'eau est nécessaire à leur passage de vie latente à vie active, à leur germination, et que l'huile ne leur en offre pas. Mais que dans cette huile on introduise un peu d'eau à l'état d'imbibition dans un corps quelconque, aussitôt les spores en contact avec la surface humide entrent en germination, les filaments mycéliens envahissent d'abord toute la surface pour envoyer ensuite au loin dans l'huile leurs branches perpendiculaires et, plus tard, s'y couvrir de fructifications. Si le liquide a été privé de germes par la chaleur, ou si, comme les huiles de colza et de lin, il s'en trouve déjà dépourvu par les pratiques mêmes de la fabrication, il est nécessaire de semer sur le corps humide, avant de l'immerger, le *Penicillium* ou tout autre Champignon que l'on veut cultiver dans l'huile. La plante se développe alors tout aussi bien que dans l'huile naturelle. J'ai réalisé ainsi un grand nombre de cultures dans de l'huile stérilisée

au préalable par la chaleur, en semant les spores sur divers corps mides, notamment sur des lames de gélatine, qui constituent un support très commode.

Où maintenant la plante trouve-t-elle l'oxygène qui lui est nécessaire, l'eau qui lui est indispensable, les matières hydrocarbonées, azotées et minérales enfin, dont elle se nourrit ?

L'huile tient en dissolution de l'oxygène et de l'azote, qui s'en dégagent dans le vide. Ces deux gaz s'y trouvent à peu près dans les mêmes proportions que dans l'air atmosphérique (1). Il semble que l'huile soit simplement pénétrée par de l'air. La plante trouve donc facilement et abondamment au sein même du liquide l'oxygène nécessaire à sa germination, à son développement et à sa fructification.

L'origine de l'eau est plus intéressante à rechercher. Un apport d'eau du dehors est nécessaire au début, on l'a vu, pour la germination des spores. Mais une fois les filaments en pleine voie de développement, la plante doit se suffire désormais à elle-même dans l'huile. On le démontre de la manière suivante : Quelques filaments mycéliens, pris à la surface du tapis de végétation dans les grandes cultures citées plus haut, sont placés au milieu d'une goutte d'huile sur le porte-objet du microscope ; on recouvre d'une lamelle et l'on abandonne la préparation. Après quelques jours, il s'est produit tout autour de l'îlot primitif un cercle régulier de filaments rayonnants et rameux, où l'on distingue nettement trois zones ; la zone externe, où les tubes sont en voie de croissance et de ramification ; la zone moyenne, plus compacte, où se développent les fructifications ; enfin la zone interne, où les filaments sont très transparents, peu visibles, en voie de destruction. Ces cultures sur porte-objet dans l'huile permettent de suivre au microscope, jour par jour, la croissance de la plante, et pas à pas le développement de ses fructifications avec plus de facilité que par tout autre moyen. De plus, comme il n'y a aucune évaporation, le milieu conserve une constance de composition qui assure au développement une remarquable homogénéité. C'est, pour certains organismes, une méthode de culture qui a d'autres avantages que celui d'être inattendue. Ici il n'y a pas eu d'eau introduite au début, la plante prise en voie de développement s'est suffi désormais à elle-même. Pour voir comment les choses se passent au point de vue de l'eau, il suffit de suivre attentivement un même filament depuis son sommet, à la périphérie, jusqu'à sa base, vers le centre de la culture. Toute la partie jeune a son protoplasma homogène et sa membrane uniformément mouillée par l'huile. En descendant, on voit le protoplasma des

(1) Le gaz extrait de l'huile par pompe à mercure et analysé m'a donné : pour l'huile d'olive, 25 pour 100 d'oxygène et 75 pour 100 d'azote ; pour l'huile de lin, 23 pour 100 d'oxygène et 77 pour 100 d'azote.

cellules se creuser de vacuoles pleines de suc cellulaire et de couleur rosée, d'abord très petites, qui vont grandissant à mesure qu'on s'éloigne du sommet. A partir du point où les vacuoles ont acquis un certain volume, on voit perler à la surface externe de la membrane de très fines gouttelettes d'eau, qui restent adhérentes au tube, auquel elles sont parfois attachées par un petit pédicelle : on dirait de petites cellules roses nées sur les flancs du tube par voie de bourgeonnement. A mesure qu'on descend vers une région plus âgée, ces gouttelettes grandissent et en même temps il s'en forme de nouvelles entre les premières ; pour ces deux causes, elles arrivent çà et là à se toucher, puis à se confondre, d'abord transversalement, en formant de petites bagues d'eau traversées par le tube, plus tard longitudinalement, en enveloppant la partie la plus âgée du tube dans une gaine continue. Dans cette région la plus âgée, les cellules du filament sont aussi presque complètement remplies d'eau, le protoplasma les a abandonnées ; elles sont mortes ou peu s'en faut. En résumé, on voit par là que la plante forme directement, à l'intérieur de son protoplasma et aux dépens de l'hydrogène de l'huile, l'eau dont elle a besoin pour sa croissance, son eau de végétation ; plus tard, à mesure qu'elle vieillit, elle expulse à travers sa membrane une partie de l'eau ainsi produite. La végétation laisse donc finalement de l'eau dans l'huile, et cette eau s'y rassemble peu à peu et s'y accumule (1).

L'huile fournit directement à la plante le carbone et l'hydrogène qui lui sont nécessaires pour former sa cellulose, ses principes sucrés, etc. Quant aux matières azotées et minérales, l'huile naturelle, et même l'huile imparfaitement épurée du commerce, en renferme toujours une petite quantité qui paraît suffire à alimenter pendant un certain temps le développement de la plante. On obtiendrait sans doute des récoltes plus abondantes en introduisant dans l'huile des substances de ces deux catégories, et c'est ce que je m'applique à faire en ce moment.

La végétation, même prolongée, du *Penicillium glaucum* et d'autres Axomycètes analogues, laisse l'huile parfaitement limpide, et il semble d'abord qu'elle n'y amène aucune altération. Cependant on voit peu à peu se former çà et là, parmi les filaments mycéliens, des nodules d'un blanc mat, composés de fines aiguilles rayonnantes ; ils sont d'abord très petits, mais grossissent peu à peu jusqu'à atteindre 1 ou 2 millimètres de grandeur. C'est une cristallisation d'acides gras, indice assuré d'une saponification lente. Comme la Levûre signalée plus haut, mais plus lentement, les Moisissures jouissent donc de la propriété de saponifier les corps

(1) C'est peut-être à cette origine qu'il faut rapporter la formation d'eau que quelques anciens auteurs ont vue se produire dans l'huile quand elle est longtemps abandonnée à elle-même. Th. de Saussure n'a pas pu observer ce phénomène, sans doute, pense-t-il, parce que l'expérience n'a pas duré assez longtemps. (*Loc. cit.*).

gras en s'y développant. Le pouvoir saponifiant y varie d'ailleurs d'une plante à l'autre : ainsi, il est plus grand dans le petit *Chætomiium* signalé plus haut que dans le *Penicillium*.

Dans les cultures sur porte-objet, on voit les nodules microscopiques d'acides gras se déposer sur les filaments eux-mêmes, non pas cependant dans leur partie jeune, pleine et lisse, mais seulement dans la région plus âgée, où le suc cellulaire a fait son apparition sous forme de vacuoles dans le protoplasma, et où des gouttelettes de ce suc ont commencé de perler à travers la membrane dont elles mamelonnent la surface externe. S'il était permis de tirer du lieu où ils se déposent en cristallisant une conclusion quelconque sur le lieu où se forment les acides gras, on serait porté à regarder la séparation des acides gras comme une conséquence de l'exsudation du liquide interne, et la saponification comme le résultat de l'action exercée sur les corps gras neutres de l'huile par ce liquide transsudé.

Si l'on revient maintenant aux deux exemples cités en premier lieu, à la Levûre et à la Monère, on verra que leur végétation s'explique de la même manière que celles des Moisissures. Ces organismes trouvent dans l'huile, de l'oxygène dissous en abondance, un aliment carboné en quantité indéfinie, des matières azotées et minérales en proportion faible, et ils savent y produire directement l'eau qui leur est nécessaire. Aussi, parmi les groupes ramifiés et arborescents de cellules de Levûre, trouve-t-on les globules les plus âgés hérissés de petites aspérités roses qui sont des gouttelettes d'eau d'une finesse extrême : la véritable signification du phénomène pourrait échapper, si on ne l'avait vu se manifester en plus grand dans le *Penicillium* et les autres Moisissures. C'est peut-être également à l'exsudation de ces fines gouttelettes de suc qu'il est permis de rattacher l'action saponifiante si énergique dont cette Levûre est douée. De même le corps protoplasmique des Monères se montre çà et là tout pointillé de rose, et l'on peut y voir aussi l'indice d'une transsudation.

SÉANCE DU 13 MAI 1881.

PRÉSIDENTE DE M. VAN TIEGHEM.

M. Malinvaud, secrétaire, donne lecture du procès-verbal de la séance du 22 avril, dont la rédaction est adoptée.

M. le Président annonce trois nouvelles présentations, et proclame membre à vie M. Alfred Chabert, qui, d'après la déclaration de